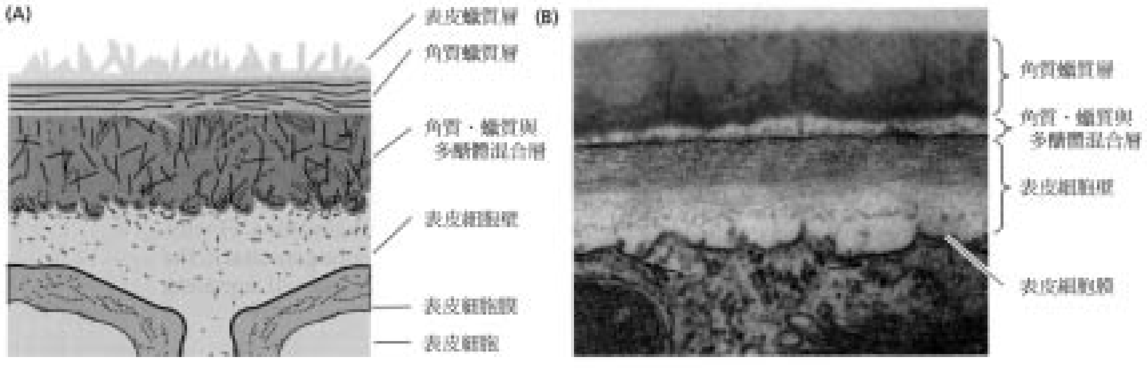
植物表皮蠟質與組織培養苗馴化之關係

◎農試所農藝組 陳威臣 夏奇鋌

一、前言

表皮組織是生物體爲維持其生理機能之穩定所特有之構造，如人類的皮膚與昆蟲的幾丁質(chitin)外殼，在植物表面最外層之保護構造爲角質層(cuticle)，含蓋大部分之植物體，扮演植物與環境間的第一道防線。細分其構造包括表皮蠟質(surface wax)、角質蠟質層(cutin embedded in wax)及混合層(mixture of cutin, wax and polysaccharides)三個部分(圖一)；其中蠟質存在於角質層之各部位，爲長鏈之碳烴化合物，其組成分依植物種類、年齡、發育情形與環境因子而有所差異，用以對抗環境中生物或非生物的逆境因子。組織培養大量繁殖是目前種苗商業生產上極爲重要的技術，廣泛應用於園藝、農藝及森林產業，然而在部分組培種苗生產過程中，出瓶馴化存活率低或馴化時間較長，往往導致生產成本的提高。究其原因，組培苗與溫室生長植株在葉片構造上存有相當大的差異，缺乏表皮蠟質引起過度的蒸散作用是主要原因之一。組培苗葉表蠟質之形成主要受到培養容器內高相對溼度與培養環境中低光照所抑制，使得瓶苗移出時因植物缺乏表皮蠟質而造成植體水分迅速地喪失，導致瓶苗馴化存活率降低；反之，如能降低瓶內相對溼度可有效促使瓶苗之葉表蠟質沉積、因而減少瓶外移植時的水分喪失，進而增加移植存活率。本文即針對表皮蠟質於組培苗馴化過程中扮演之角色加以討論。



圖一、植物葉片表皮保護者-角質層之構造(Taiz and Zeiger, 1998)。

作　者：陳助理研究員威臣
連絡電話：04-23302301-109

二、表皮蠟質、角質層與植體水分喪失之關係

一般而言，蠟質主要由長鏈(＞C18)碳氫化合物(hydrocarbons)、脂肪酸 (fatty acids)、酯質(esters)、游離脂肪酸 (free fatty acids)、醇類、醛類 (aldehydes)、酮類 (ketones)、三萜烯類 (triterpenes)、固醇類 (sterols)及類黃酮類 (flavonoids)等物質所構成的一種長鏈烷烴類(alkane；C_nH_{2n+2})混合物。不同植物種類的蠟質成分有顯著的差異，甚至相同植物種類在不同環境中亦會形成不同的生態型，而且不同器官與組織也有著不同的蠟質成分與結晶型式；植物新生葉片並無蠟質，但隨著葉片生長發育蠟質逐漸形成；一般而言，由於環境因子(風與光照)或機械的摩擦，並伴隨著蠟質合成的停止，導致老化葉片之蠟質較少。

角質層為覆蓋於植體表皮細胞上之多層狀構造，而蠟質則存在其中；角質層為廣義的脂質，具有高度的疏水性，此疏水性除防止雨水大量滲入外，亦可阻礙水分自植體中溢失，也就是抑制非氣孔性之蒸散作用；植體外表之角質層就相當於一層保護膜，扮演第一道的防禦陣線。此外，表皮蠟質結晶突出於葉片表面的現象，可能增加邊界層(boundary layer)的厚度，因此可藉由增加葉表對水蒸氣擴散作用的抗性，直接影響氣孔導度而降低蒸散作用，因而達到抑制水分喪失的目的。

三、表皮蠟質在組織培養苗馴化過程的角色

利用組織培養大量繁殖種苗是目前許多花卉及觀賞作物量產的主要方式，然其生產成本較傳統播種或扦插方式高；組織培養大量繁殖為求繁殖倍率的提高，常採用高濃度的激動素(cytokinins)或液體培養以達目的，因而組培苗常發生玻璃質化之病態植物生理現象；又因培養過程中為防止污染及水分喪失，利用低透氣性的材質(如鋁箔紙)覆蓋，造成瓶內之相對濕度過高，導致缺乏表皮蠟質形成或氣孔功能異常，致使組培苗生理及型態上的異常，導致瓶外馴化操作困難、勞動成本提高、組培苗存活率低下等商業生產的嚴重損失。

低瓶苗馴化存活率往往與玻璃質化現象有著極大的相關性，形態變化上除出現玻璃質化外觀的葉片外，微觀上往往可發現其缺乏表皮蠟質，而此顯著變化可能與瓶苗移出馴化時之水分迅速喪失有關(表一)。除了上述角質層的型態差異外，組培苗與溫室生長之植株在葉片構造上也有很大的差異，主要是柵狀薄壁組織不足及葉綠體形態異常，其他如較大的海綿薄壁細胞間隙及異常突出的氣孔等，而氣孔功能失調則是另一個組培苗移出馴化時水分大量流失的重要原因。綜合以上許多證據顯示，組培苗於瓶外馴化時的低存活率，表皮蠟質缺乏及氣孔功能喪失所引起過度的蒸散作用應為主要原因。

四、葉表蠟質增加對組培苗瓶外移植存活率之影響

組織培養苗表皮蠟質較低或缺乏，導致瓶外馴化時過度的水分喪失，而降低移植存活率；若增加組培苗表皮蠟質，是否就有助於組培苗的移植存活率呢？利用高透氣性的培養容器覆蓋物或降低培養環境的相對濕度之試驗結果顯示，均能有效促

表一、組織培養條件與植物種類對組織培養苗葉表蠟質之型態與生理變化的影響

培養條件	植物種類	葉表蠟質型態與生理變化	參考文獻
液態或半固態培養	康乃馨 *Dianthus caryophyllus*	葉表蠟質含量降低	Sutter & Langhans (1979)
液態培養	雲杉 *Picea sitchensis*	不規則韌皮部、細胞壁變薄、氣孔異常、葉表蠟質含量降低	John (1986)
液態或半固態培養	高麗菜 *Brassica oleracea capitata*	蒸散作用增加、葉表蠟質含量降低	Sutter & Langhans (1982)
半固態培養	草莓 *Fragarin x ananas*	葉表蠟質含量降低	Fabbri *et al*. (1986)
低相對溼度培養	布拉斯李樹 *Prunus insititia*	葉表蠟質含量增加	Fuchigama *et al*. (1981)
70-80% 相對溼度培養	康乃馨 *Dianthus caryophyllus*	葉綠素、蠟質與乾物質含量增加	Dolev (1986), Ziv (1986)
	花椰菜 *Brassica oleracea botrytics*	葉表蠟質含量增加、蒸散作用降低	Short *et al*. (1987)
聚乙二醇	花椰菜 *Brassica oleracea botrytics*	葉表蠟質含量增加	Short *et al*. (1987)

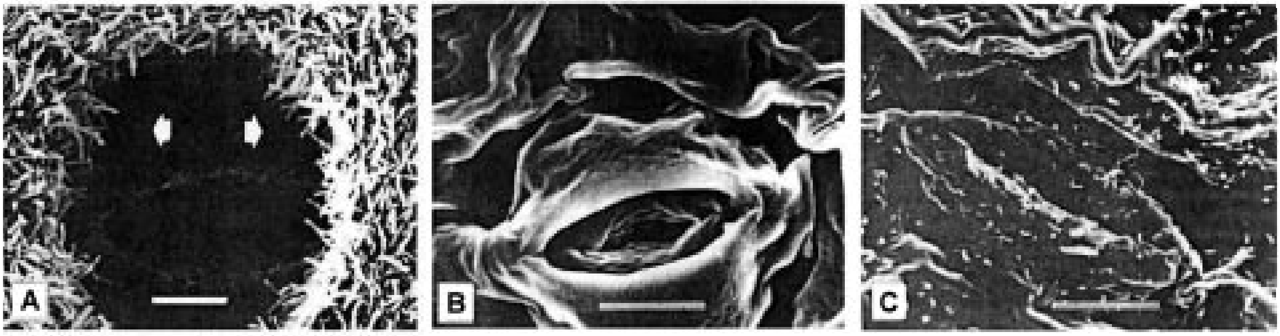
(翻譯自Ziv, 1991)

進瓶苗葉表蠟質的形成，並可抑制組培苗之玻璃質化現象，進而提高組培苗之馴化成功率。利用硫酸銨(ammonium sulfate)或溴化鈉 (sodium bromide)飽和鹽類溶液降低培養瓶內相對濕度，使得菊花與甜菜組培苗在低相對溼度 (81% RH)下，顯示表皮蠟質含量的增加與玻璃質化組培苗比率的降低。玫瑰 (*Rosa mulyiflora*)組培苗於低相對濕度 (75% RH)配合高光強度 (80 m mole m^{-2} s^{-1})時，亦顯示能夠有效控制玻璃質化現象，使得組培苗葉表蠟質、氣孔及表皮細胞等葉片組織構造，都相似於溫室生長植株，不僅提高瓶外移植存活率，且縮短馴化之時間。其他如利用硫酸銅 ($CuSO_4$)、或氯化鈣 ($CaCl_2$) 降低瓶內相對濕度，亦可促進康乃馨(*D. caryophyllus*) 、菊花與花椰菜組培苗葉表蠟質形成與提高瓶外移植的存活率。

除上述降低瓶內相對溼度等方法外，添加蛋白酶 (Bacto-Peptone)於培養基中亦可有效促進葉表蠟質形成，提高存活率達92%，顯示蠟質形成與玻璃質化苗恢復具有正相關的關係(圖二)。此外，葡萄之研究指出，聚乙烯二醇(polyethylene glycol) PEG 8000處理可有效地增加葉表蠟質、減少瓶外移植時的水分喪失，並增加瓶外移植存活率。因此，組培苗培養於低相對溼度環境下，或利用降低培養基滲透勢的處理，可誘使葉表蠟質沉積，有效抑制玻璃質化苗形成，提高瓶外移植的馴化存活率而減少損失。

五、結語

植物體表上覆蓋著主要由蠟質所構成之角質層，由於其疏水性以及形態、構造上的特色，使其具有防止失水及保護的功



圖二、利用掃描式電子顯微鏡(Scanning electron microscopy, SEM)觀察康乃馨(Dianthus caryophyllus)葉片上表皮之蠟質結晶。A：溫室生長之正常植株葉表；B：玻璃質化組培苗葉表；C：玻璃質化苗經Peptone處理而回復之組培苗葉表。Scale bar=5m. (Sato et al., 1993)

能。表皮蠟質位於角質層的最外層，提供植物與其所處環境間之疏水障礙，是在植物水分調節過程中重要的影響因子。同樣地，組織培養苗馴化過程中，往往因爲水分喪失過多而導致組培苗之乾枯死亡，若能利用乾燥劑或通氣處理以降低瓶內相對溼度，或藉由PEG或Peptone等處理以促使組培苗葉片表皮蠟質的形成，不但可縮短瓶苗移出馴化所需之時間，同時亦有助於提昇馴化成功率與增進組培苗之品質，因而降低組培業者之生產成本，且間接增加栽種農民之收益。

六、參考文獻

張育森。1985。科學農業 33：197-200。

Capellades, M. 1990. J. Amer. Soc. Horti. Sci. 115: 141-145.

Dami, I. and H. G. Hughes. 1997. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 47: 97-101.

Jenks, M. A. and E. N. Ashworth. 1999. Horti. Rev. 23: 1-66.

Jeong, B. R., K. Fujiwara and T. Kozai. 1995. Horti. Rev. 17: 125-172.

Majada, J. P., M. I. Sierra and R. Sanchez-Tames. 2001. Sci. Horti. 87: 121-130.

Ritchie, G. A., K. C. Short and M. R. Davey. 1991. J. Exp. Bot. 42：1557-1563.

Sato, S., M. Hagimori and S. Iwai. 1993. Plant Cell Rep. 12: 370-374.

Taiz, L. and E. Zeiger. 1998. Plant Physiology (2nd edition), pp. 92-93, 348-349.

Ziv, M. 1991. Micropropagation: Technology and Application. (Debergh, P. C. and R. H. Zimmerman, eds.), pp. 45-69.